



Title	Cbfa1 Is a Positive Regulatory Factor in Chondrocyte Maturation
Author(s)	榎本, 平之
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42669
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	榎 本 平 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 0 7 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	Cbfa 1 Is a Positive Regulatory Factor in Chondrocyte Maturation (Cbfa 1 は軟骨細胞の成熟における正の制御因子である)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松澤 佑次 (副査) 教 授 北村 幸彦 教 授 吉川 秀樹

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Cbfa 1 (core-binding factor 1) はショウジョウバエの体節形成遺伝子 runt にホモロジーを持つ runt ドメイン遺伝子ファミリーの一つである。そしてそのノックアウトマウスは骨形成を欠損し、Cbfa 1 は骨形成、特に骨芽細胞分化に必須の遺伝子であることが判明した。Cbfa 1 のノックアウトマウスは骨形成を欠くのみならず、ほとんどの軟骨が静止・増殖軟骨細胞からなり、その成熟が著しく阻害されていた。このことより Cbfa 1 は骨芽細胞だけでなく軟骨細胞の分化にも重要である可能性が示唆された。Cbfa 1 には N 末端の異なる 2 つのアイソフォームが存在する。すなわち伊藤らによりクローニングされ、当初 T 細胞特異的と考えられた *Pebp 2 α A* / Cbfa 1 (Type-I Cbfa 1 と表記) と、その後骨芽細胞特異的な転写因子として Karsenty らにより報告された *Osf 2* / Cbfa 1 (Type-II Cbfa 1 と表記) である。本研究では、Cbfa 1 の軟骨分化における役割を明らかにするために、2 つのアイソフォーム各々についてその発現を検討し、また *in vitro* で Cbfa 1 が軟骨分化に与える影響を検討した。

【方法】

in situ hybridization 法により *in vivo* での Cbfa 1 の発現について検討を行った。

インスリン存在下で軟骨細胞へ分化する細胞株 ATDC 5 を用い、*in vitro* での軟骨細胞分化過程における Cbfa 1 の発現をノーザンブロットで調べ、また Cbfa 1 のアンチセンスオリゴヌクレオチドを作用させ、軟骨細胞分化へ与える影響を調べた。

また胎生期のニワトリの胸骨より得た未分化な軟骨細胞にレトロウイルスベクターを用いて Cbfa 1 を強制発現させ、軟骨細胞分化誘導能を検討した。

【成績】

Cbfa 1 は Type-I・Type-II いずれのアイソフォームとも骨芽細胞と肥大軟骨細胞に強く発現が認められた。

ATDC 5 細胞を用いた *in vitro* での軟骨細胞分化モデルでは、成熟軟骨細胞マーカーである type X コラーゲンを発現する直前に Type-I Cbfa 1 の発現上昇が見られ、Type-I Cbfa 1 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドで type X コラーゲンの発現は著しく抑制された。また Type-I Cbfa 1 の場合に比して軽度ではあるが、Type-II Cbfa 1 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドでも type X コラーゲンの発現低下が認められた。すなわち Cbfa 1 のアンチセンスオリゴは軟骨細胞の成熟を抑制した。

Type-I Cbfa 1、Type-II Cbfa 1 いずれの強制発現でも、未分化な軟骨細胞はその細胞増殖が抑制された。一方プロテオグリカンの産生は上昇し、typeX コラーゲンの発現、アルカリホスファターゼ活性の上昇、基質の石灰化が誘導され、軟骨細胞の著明な成熟をみた。

【総括】

転写因子 Cbfa 1 の軟骨細胞における発現およびその分化への関与について検討した。Cbfa 1 の2つのアイソフォームはいずれも肥大軟骨細胞に強く発現していることが in situ hybridization で確認された。ATDC 5 細胞を用いた実験では軟骨細胞の肥大化の直前に Cbfa 1 の発現が上昇し、また Cbfa 1 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドでその分化が抑制されることが示された。レトロウイルスを用いた強制発現実験では Cbfa 1 は初代培養軟骨細胞の分化を強く促進することが示された。これらの実験結果および Cbfa 1 のノックアウトマウスで軟骨細胞の分化障害が認められたことから、Cbfa 1 は軟骨細胞における重要な分化促進因子であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

この研究は、Cbfa 1 が軟骨細胞の成熟を促進させる因子として働く可能性を検討したものである。すなわち Cbfa 1 のノックアウトマウスで軟骨の分化障害が認められることに着目し、Cbfa 1 の軟骨における発現とその機能について in situ hybridization と培養細胞を用いて検討したものである。in situ hybridization の結果より、Cbfa 1 は軟骨細胞、特に肥大軟骨細胞に強く発現していることが示された。ATDC 5 細胞を用いた実験では軟骨細胞の肥大化の直前に Cbfa 1 の発現が上昇し、また Cbfa 1 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドでその分化が抑制されることが示された。レトロウイルスを用いた強制発現実験では Cbfa 1 は初代培養軟骨細胞の分化を強く促進することが示された。これらの結果より、Cbfa 1 が軟骨細胞の成熟を促進させる機能を有することが明らかとなり、軟骨細胞分化に関与する重要な因子として位置づけられた。以上よりこの研究は学位に値すると考える。